

riété, « *η. pedatus*, foliis pedatis sericeis nitidissimis » du *C. althæoides*, et dans le *C. argyræus* DC. une autre variété, « *γ. Caule foliisque argenteo-sericeis* » (in de Candolle, *Prodr.* IX, 409). Parlatore admet cette même synonymie pour le *C. althæoides* : « *Planta variabilissima per la lobatura delle foglie e la loro pelurie... Il C. tenuissimus non è che una forma estrema per la divisione delle foglie, fra laquale e l'altre forme vi sono molti passaggi* » (*Flor. ital.* VI, 815).

Loret et M. Barrandon tiennent aussi le *C. argyræus* DC. pour une forme du *C. althæoides* (*Flor. de Montp.* II, 440). Mais, bien que le *C. althæoides* soit une espèce très variable, la persistance des caractères de cette prétendue *forme* ou *variété* ne justifie pas une telle interprétation.

Il découle, ce me semble, des considérations qui précèdent :

1° Que l'on doit considérer la plante d'Aix comme le *C. tenuissimus* Sibth. et Sm., dénomination qui a la priorité sur celle de *C. argyræus* DC., inscrite dans le cinquième volume de la *Flore française* (p. 423), de 1815, le *Flora græca* de Sibthorp et Smith ayant paru de 1806 à 1813 ;

2° Que l'on peut, jusqu'à preuve de transformation par une longue culture du *C. tenuissimus* en *C. althæoides* (celui-ci manquant à la flore d'Aix), les tenir pour espèces distinctes, nonobstant la stérilité du premier à Aix et à Toulouse, car le second, bien que très florifère à notre École de botanique, n'y porte que rarement des graines ;

3° Qu'en l'absence de toute donnée sur l'origine du *C. tenuissimus* aux portes d'Aix, il convient de l'inscrire comme espèce française, bien qu'elle soit cantonnée dans un coin de notre sol. De Candolle a eu inconsciemment raison de le faire.

M. Mangin fait à la Société la communication suivante :

OBSERVATIONS SUR LE DÉVELOPPEMENT DU POLLEN ;
par M. Louis MANGIN.

Les nombreux travaux publiés jusqu'à présent sur le développement du pollen nous ont fait connaître les modifications éprouvées par le protoplasme et le noyau pendant la formation des cellules mâles, mais nos idées sur la nature des membranes et leurs transformations sont peu avancées.

La controverse qui s'est établie tout récemment sur le mode de formation des membranes a bien provoqué, de la part de MM. Strasburger (1)

(1) Strasburger, *Histologische Beiträge* 1889. Heft. II (*Ueber das Wachsthum der vegetabilischer Zellhaute*).

et Wille (1), etc., des vues originales sur la membrane des cellules-mères et des cellules polliniques; mais ces vues sont fondées sur la description physique, et aucune donnée nouvelle n'a été fournie sur la nature de ces membranes ou sur les transformations qu'elles subissent pendant la différenciation progressive des tissus de l'anthere.

Les observations que j'ai résumées dernièrement (2) sur la structure de la membrane du pollen mûr m'ont engagé à reprendre l'étude du développement de ces importantes cellules. Les résultats nouveaux obtenus dans cette étude, qui semblait devoir être stérile par suite des nombreux travaux déjà publiés, m'ont paru intéressants, et, quoique ce travail ne soit pas encore terminé, je viens présenter à la Société, pour prendre date, quelques observations sur ce sujet.

J'examinerai d'abord, à titre d'exemple, le *Digitalis purpurea*, dont les fleurs à différents états de développement ont été conservées dans l'alcool absolu.

Les coupes transversales d'anthers très jeunes sont d'abord débarrassées des matières azotées par la macération dans l'eau de Javelle étendue; car elles pourraient masquer les réactions des membranes. Les coupes sont traitées ensuite par les réactifs de la cellulose. L'acide phosphorique iodé convient très bien pour ce genre d'observations, et on l'emploie de la manière suivante. Les coupes étant placées dans une solution d'acide phosphorique iodé de concentration moyenne (3), on ajoute un cristal d'acide phosphorique cristallisé, de manière qu'il couvre les coupes à examiner; le cristal se dissout lentement, et l'on voit les tissus riches en cellulose se colorer progressivement, et avec une grande intensité, en bleu foncé. Lorsque le cristal est dissous, on couvre d'une lamelle, et on procède à l'observation. Les parois des cellules manifestent avec une grande netteté les réactions de la cellulose, sauf dans quatre régions occupant la place des futurs sacs polliniques; là les cellules, d'assez grande taille, sont limitées par une membrane qui reste incolore ou qui se colore très faiblement dans les anthers très jeunes. La cellulose fait donc défaut dans la membrane des cellules-mères primordiales; on ne la rencontre, et seulement en petite quantité, qu'au moment de l'individualisation de ces cellules.

D'autres coupes, aussi débarrassées des matières azotées, sont placées dans une goutte de phénosafranine ou de bleu de méthylène, réactifs des composés pectiques insolubles; elles permettent de constater la présence

(1) N. Wille, *Ueber die Entwicklungsgechichte der Pollenkörner der Angiospermen und das Wachsthum der Membranen durch Intussuception* (Christiania, Videnskabs-selskabs Forhandling, 1886, n° 5).

(2) *Bull. Soc. bot.*, t. XXXVI, p. 274, mai 1889.

(3) *Bull. Soc. bot. de France*, t. XXXV.

de ces composés dans toute l'étendue de la coupe, aussi bien dans la membrane des cellules-mères primordiales que dans le parenchyme de l'anthere.

Dans des étamines un peu plus âgées, notamment au moment de la division des cellules-mères du pollen, la membrane de celles-ci n'est formée que par des composés pectiques. Traitées comme précédemment par l'acide phosphorique iodé, ces membranes ne manifestent pas trace de cellulose, tandis que la phénosafranine les colore en jaune orangé et le bleu de méthylène en bleu violacé.

Si l'on n'avait pas pris la précaution de débarrasser les tissus des matières azotées, les réactions précédentes seraient masquées; car les composés pectiques sont mélangés, dans la membrane de ces jeunes cellules, à une forte proportion de matières azotées; ces dernières sont faciles à mettre en évidence avec l'induline ou la nigrosine qui ne se fixent pas sur les composés pectiques et colorent les substances protéiques en bleu noir. Pour ne laisser aucun doute sur la présence des composés pectiques dans la membrane des cellules-mères, on laisse macérer les coupes dans la potasse caustique étendue qui transforme, au bout d'un certain temps, les composés pectiques en pectates solubles. Si l'on examine alors les coupes dans l'eau, les membranes privées de cellulose se gonflent, se désagrègent peu à peu en se dissolvant, et la phénosafranine ou le bleu de méthylène ne donnent plus la coloration caractéristique.

Un peu avant la double partition du noyau des cellules-mères polliniques, on sait que la membrane s'épaissit irrégulièrement, puis elle se gélifie progressivement pendant la formation des quatre cellules polliniques, de manière à les envelopper dans une masse de gelée incolore. La constitution chimique de la membrane présente, à ce moment, une complexité qu'on n'avait pas soupçonnée jusqu'ici. Mes observations antérieures sur le grain de pollen mûr ayant montré que le gonflement et la gélification des membranes sont ordinairement dus aux composés pectiques qui la composent, je m'attendais à retrouver le même phénomène dans la paroi des cellules-mères polliniques. Aussi ai-je été surpris de constater que la proportion de ces substances n'augmente pas sensiblement, et que les amas réfringents irréguliers, dont la présence a depuis longtemps été signalée, ne se colorent pas par la phénosafranine, ni par le bleu de méthylène; l'acide phosphorique iodé n'y produit non plus aucune coloration bleue, il leur communique seulement une teinte jaune. Mais, si l'on emploie comme réactif le bleu d'aniline, on constate que ces masses réfringentes se colorent en bleu de ciel et sont formées par la substance que j'ai déjà signalée dans le grain de pollen et que j'ai

nommée *substance calleuse*, pour rappeler son analogie avec le cal renfermé dans les tubes criblés pendant le repos végétatif.

D'abord formée par des amas irréguliers occupant les angles de chaque cellule, cette substance augmente peu à peu en volume et refoule les masses protoplasmiques. Je n'ai pu encore décider si cette augmentation de volume de la substance calleuse est due à une accumulation de matériaux nouveaux, ou bien si elle est causée par un gonflement consécutif de l'absorption de l'eau. J'incline à penser cependant que l'épaisseur de la membrane des cellules-mères du pollen augmente par l'apport de nouvelle substance calleuse et non par une gélification; en effet le réactif colore avec la même intensité les différentes parties de la masse, d'autre part les contours de cette substance sont nettement limités; enfin, si l'on écrase les tissus par une légère pression exercée sur la lamelle, la substance calleuse se fragmente en morceaux irréguliers et anguleux, ce qui n'arriverait pas si elle était en voie de gélification.

Les coupes pratiquées dans une anthère au moment où les quatre cellules polliniques sont constituées dans chaque cellule-mère, mais lorsque celles-ci forment encore un tissu compact, sont examinées dans une goutte de safranine ou de bleu de méthylène: la masse de substance calleuse qui emprisonne les tétrades reste incolore, et toutes les cellules-mères sont séparées par des cloisons minces sur lesquelles les colorants se fixent; elles sont formées par des composés pectiques associés à des matières azotées.

La dissociation du tissu formé par les cellules-mères et la mise en liberté des grains de pollen a lieu successivement. Tout d'abord, la mince membrane mitoyenne des cellules-mères, formée par des composés pectiques insolubles, se dissout par suite du passage de ces corps à l'état soluble, et les tétrades, enveloppées encore dans une gaine épaisse et réfringente de substance calleuse, sont dissociées. Un peu plus tard, la substance calleuse se dissout à son tour et les cellules polliniques sont mises en liberté. La disparition de la substance calleuse est très rapide; car, si l'on compare deux boutons de fleur ayant à peu près les mêmes dimensions, on trouve dans l'un les sacs polliniques encore remplis d'un tissu compact où la substance calleuse manifeste très nettement ses réactions caractéristiques, tandis que, dans l'autre, les cellules polliniques sont déjà dissociées, et les réactifs ne décèlent pas trace de la substance calleuse. Cette dissolution paraît cependant précédée d'une modification dans la constitution chimique; car on peut rencontrer, dans certaines coupes, des régions où la substance calleuse, tout en conservant sa réfringence, ne fixe plus que très faiblement le bleu d'aniline.

J'ignore encore la nature de ces transformations; néanmoins les observations que je viens de rappeler montrent que le phénomène de la géli-

fication, assez mal défini d'ailleurs dans les traités de botanique actuels, n'intervient presque pas dans l'anthère pour mettre les grains de pollen en liberté à l'intérieur des sacs polliniques.

La plupart des espèces présentent à l'observation les mêmes faits que la Digitale, je signalerai notamment les espèces suivantes : *Asparagus officinalis*, *Lycium europæum*, *Althæa rosea*, *Cephalaria tartarica*, *Tropæolum majus*, *Campanula Rapunculus*, etc.

Dans toutes ces plantes, la cellulose qui existe au début dans le tissu homogène de l'anthère, associée à des composés pectiques, disparaît rapidement au moment de l'individualisation des cellules-mères primordiales, et, jusqu'à la double bipartition des cellules polliniques, les cloisons nouvelles qui se constituent par la division des cellules-mères primordiales sont formées par des composés pectiques purs ou associés à des matières azotées; au moment de la bipartition des cellules-mères polliniques, la substance calleuse apparaît à la surface interne des membranes et augmente progressivement de manière à entourer complètement les cellules de chaque tétrade.

Il existe cependant quelques différences à signaler entre les diverses espèces que j'ai étudiées. Ainsi, dans le *Gentiana officinalis*, les tétrades examinées au moment de la dissociation des cellules-mères du pollen sont entourées d'une membrane réfringente qui présente, çà et là, des épaisissements formant saillie à l'extérieur. Cette membrane n'est pas homogène comme celle des anthères de la Digitale, car les réactions de la substance calleuse se manifestent seulement dans la partie qui entoure et qui englobe les tétrades; les épaisissements irréguliers qui font saillie à l'extérieur sont constitués par une substance incolore renfermant de nombreuses granulations de matières azotées, elle ne donne aucune coloration avec les réactifs des composés pectiques ou avec ceux du cal. Cet état représente-t-il un des stades précédant la dissolution de la substance calleuse? C'est ce que je ne saurais affirmer quant à présent.

Dans le *Campanula rapunculoides*, les composés pectiques et la substance calleuse intracellulaire sont plus ou moins mélangés. En effet, les coupes transversales d'anthères, pratiquées dans les boutons ayant 3 millimètres de longueur, montrent, dans les sacs polliniques, les cellules-mères du pollen, irrégulières, réunies les unes aux autres par un ciment formé de composés pectiques en voie de dissolution. La paroi des cellules-mères est épaissie et réfringente; elle est constituée par une couche plus ou moins épaisse, extérieure, formée par les composés pectiques qui constituent aussi la plus grande partie des épaisissements irréguliers dans lesquels on distingue les couches nettement stratifiées depuis longtemps décrites. La substance calleuse forme la partie interne, très réfringente, de la membrane, ainsi que les lames séparant les tétrades;

elle forme aussi, en petite quantité, des strates dans les épaissements irréguliers qui sont à l'extérieur, et là se trouve intimement mélangée aux composés pectiques.

La substance calleuse présente parfois une assez grande hétérogénéité; ainsi dans l'*Althæa rosea*, si l'on écrase les anthères renfermant des tétrades encore plongées dans la masse réfringente qu'elle constitue, on distingue deux bandes de granulations disposées en croix et traversant diamétralement la substance calleuse entre les masses protoplasmiques des cellules; ces granulations sont constituées par des matières azotées. En outre on remarque quelques stries parallèles aux faces internes des loges qui emprisonnent les cellules polliniques. Ces détails de structure sont plus difficiles à voir dans les autres espèces à cause de l'exiguïté des cellules-mères polliniques.

Avant de terminer ces observations, j'ajouterai quelques mots sur la nature et l'origine de la membrane du grain de pollen.

Prenons la *Gentiane officinale* comme exemple, les boutons ayant 1 centimètre de longueur offrent les états les plus favorables à l'examen; car c'est dans les tétrades, encore incluses au milieu de la gelée formée par la substance calleuse, que la membrane propre du grain de pollen fait son apparition.

Il n'est pas nécessaire, pour cet examen, de pratiquer des coupes transversales minces de l'anthère; on peut obtenir de bonnes préparations en écrasant seulement les étamines dans les réactifs colorants. A l'aide d'une goutte de phénosafranine, on peut constater que les masses protoplasmiques des grains de pollen sont déjà entourées d'une mince membrane colorée en jaune orangé; mais, comme les matières azotées prennent la même teinte, il n'est pas facile de reconnaître, par la coloration seule et au moyen de ce réactif, la nature de ce revêtement. Il est préférable d'employer pour cet examen le bleu de méthylène et d'examiner les préparations dans une lumière riche en radiations jaunes (lumière naturelle du gaz, du pétrole, ou lumière solaire tamisée par un verre jaune). Dans ces conditions, le bleu de méthylène communique une teinte violacée, presque lie de vin, aux composés pectiques, tandis qu'il colore les matières azotées en bleu, et la lignine ou la cutine en bleu verdâtre; on peut alors assez facilement constater, autour des jeunes grains de pollen, l'existence d'une membrane mince ayant les réactions des composés pectiques. D'ailleurs cette membrane disparaît entièrement par un séjour prolongé dans la potasse caustique étendue, parce qu'elle est transformée en pectates solubles.

Cette membrane n'a aucune adhérence avec la substance calleuse qui entoure les tétrades, elle est au contraire fixée en certains points à la

substance protoplasmique du grain; ce fait, joint à la différence complète de nature entre la membrane de la cellule-mère et la paroi propre du grain, tend à montrer que cette dernière n'a aucune communauté d'origine avec la paroi des cellules-mères, contrairement à ce qui a été affirmé pour certaines espèces. La membrane propre du grain de pollen est uniforme et d'épaisseur égale dans les grains encore sphériques, mais chez ceux où la forme prismatique du pollen mûr commence à s'accuser, on voit apparaître des épaississements intérieurs correspondant aux arêtes du prisme et représentant les amas que l'on rencontre dans le grain arrivé à maturité; c'est en face de ces bandes épaissies que se constituent, plus tard, les plis de l'exine.

L'examen des préparations dans l'acide phosphorique iodé montre l'absence complète de cellulose dans la membrane primitive du grain, les composés pectiques seuls entrant dans sa constitution.

L'observation d'anthères présentant un stade un peu plus avancé laisse voir l'apparition des couches cutinisées de l'exine dans la membrane primitivement homogène, mais on n'aperçoit encore aucune trace de cellulose à la face interne de celle-ci où les composés pectiques persistent. C'est beaucoup plus tard, quand les grains de pollen sont mis en liberté dans les sacs polliniques et qu'ils ont presque acquis leurs dimensions définitives, que la cellulose manifeste son apparition par les réactions caractéristiques; d'ailleurs, dans la *Gentiane officinale*, la proportion de cellulose est très faible. La partie cellulosique de l'intine ne constitue pas une membrane distincte, elle se continue sans solution de continuité, vers la région extérieure avec les amas de composés pectiques que nous avons vus ébauchés de très bonne heure.

La membrane du grain de pollen est donc, à l'origine, homogène et formée par des composés pectiques purs; bientôt cette membrane se différencie vers l'extérieur et se transforme en cutine, puis plus tard elle développe, à sa face interne et dans une partie de son épaisseur, de la cellulose. C'est alors qu'on peut y distinguer au moins deux couches, l'*intine* et l'*exine*; on doit donc considérer ces deux couches, non comme des membranes formées successivement, mais comme le résultat de la différenciation progressive d'une membrane unique. D'ailleurs, par sa structure, la membrane du grain de pollen présente une grande analogie avec la membrane externe des cellules épidermiques; je reviendrai plus tard sur cette analogie déjà signalée par M. Van Tieghem dans son cours au Muséum.

Si M. Strasburger a émis, dans son récent Mémoire (1), des vues différentes, et s'il considère, dans un certain nombre d'espèces, l'intine

(1) *Loc. cit.*

comme une membrane de nouvelle formation, née par apposition à la face interne de l'exine, cela tient à ce qu'il n'a pas suivi, avec les réactifs appropriés, dans les diverses espèces étudiées, les phases successives de développement de la membrane que je viens de rappeler d'après la *Gentiane officinale*.

On obtiendrait les mêmes résultats avec le *Lilium candidum*, l'*Asparagus officinalis*, le *Cephalaria tartarica*, le *Geranium pratense*, etc.

Dans une prochaine communication, je compléterai, s'il y a lieu et en attendant un Mémoire détaillé en préparation, les observations précédentes.

M. l'abbé Hy fait à la Société la communication suivante :

SUR LES MODES DE RAMIFICATION ET DE CORTICATION DANS LA FAMILLE DES CHARACÉES, ET LES CARACTÈRES QU'ILS PEUVENT FOURNIR A LA CLASSIFICATION; par M. l'abbé HY.

La morphologie des Characées a été l'objet de recherches minutieuses qui ont fait ressortir dans ses moindres détails l'admirable architecture du corps de ces végétaux. A la suite des botanistes éminents qui s'en sont occupés, il reste peu à glaner; cependant je prends la liberté d'attirer l'attention de la Société sur quelques points de leur organisation qui intéressent spécialement la classification naturelle.

I

1° *Ramification des axes.* — Les Characées se ramifient, comme on sait, principalement par des branches axillaires possédant la même structure que l'axe principal. Ces rameaux, que l'on peut appeler *primaires*, naissent à l'aisselle des feuilles les plus âgées du verticille, isolés dans les *Chara*, au nombre de deux dans les *Nitella*. Ce caractère très simple, en apparence, permet au premier coup d'œil, même quand les autres font défaut, de distinguer les plantes appartenant aux deux principaux genres de la famille. Toutefois, cet examen réclame souvent un peu d'attention; car il n'est pas rare de voir chez certains *Chara* le nombre des rameaux s'élever à deux ou trois par verticille, et même à cinq ou six chez quelques *Nitella*. Pour s'expliquer cette anomalie apparente, il suffit de considérer que chaque rameau primaire peut toujours être accompagné à sa base de deux rameaux accessoires, naissant l'un à sa droite, l'autre à sa gauche, non plus à l'aisselle des feuilles, mais en face des stipules dans les *Chara*. On pourrait appeler stipulaires ces ramuscules de second ordre, s'ils n'existaient également chez les *Nitella*,